

Đánh giá đa dạng di truyền các quần thể cá Tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bằng 20 chỉ thị phân tử microsatellite mới phát triển

Nguyễn Văn Sáng¹, Nguyễn Minh Thành², Nguyễn Hoàng Thông¹,
Trần Hoàng Gia Linh², Lê Hoàng Khôi Nguyên^{2*}, Nguyễn Hồng Lộc¹

¹Viện Nghiên cứu và Nuôi trồng Thủy sản II

²Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 3/5/2021; ngày chuyển phản biện 12/5/2021; ngày nhận phản biện 25/6/2021; ngày chấp nhận đăng 1/7/2021

Tóm tắt:

Cá Tra - *Pangasianodon hypophthalmus* là một trong những đối tượng thủy sản quan trọng mang lại giá trị xuất khẩu lớn tại Việt Nam. Nghiên cứu này sử dụng 26 chỉ thị microsatellite mới phát triển từ trình tự hệ gen cá Tra để đánh giá đa dạng di truyền 3 quần thể cá Tra tự nhiên (Biển Hồ, Cửu Long và Kratie) nhằm phục vụ cho Chương trình chọn giống cá Tra. Nghiên cứu phát hiện 6/26 locus có tần số alen ảo đáng kể và sai khác với định luật Hardy-Weinberg. Đối với 20 locus không mang alen ảo, nghiên cứu đã xác định được tổng cộng 255 alen, dao động từ 7 đến 21 alen mỗi locus, trong đó có nhiều alen đặc trưng cho quần thể. Kết quả phân tích trên 20 locus cho thấy, hệ số đa hình trung bình $PIC=0,783$; tỷ lệ dị hợp tử quan sát $H_o=0,809$; tỷ lệ dị hợp tử mong đợi $H_e=0,812$; hệ số cận huyết $F_{is}=-0,0147$ ($F_{is}<0$). Kết quả này cho thấy các quần thể cá Tra có mức độ đa dạng di truyền cao, phù hợp cho công tác chọn giống lâu dài. Kết quả phân tích AMOVA, kiểm định giá trị F_{ST} và so sánh khoảng cách di truyền D_{ST} cho thấy, 3 quần thể cá Tra có sự thay đổi mức độ phân tử nhỏ, trong đó quần thể Kratie có khoảng cách di truyền đáng kể so với hai quần thể còn lại.

Từ khóa: cá Tra, chỉ thị microsatellite, đa dạng di truyền, *Pangasianodon hypophthalmus*.

Chỉ số phân loại: 4.5

Đặt vấn đề

Nghề nuôi cá Tra *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) đã rất phổ biến tại vùng Đồng bằng sông Mekong từ năm 1960 và trở thành biểu tượng cho sự phát triển của nuôi trồng thủy sản trong khu vực nhờ hệ thủy sinh đặc thù [1]. Theo Hiệp hội chế biến và xuất khẩu thủy sản Việt Nam (VASEP), riêng tại Việt Nam, trong năm 2018, cá Tra đã được xuất khẩu sang 132 thị trường trên thế giới với tổng giá trị xuất khẩu đạt 2,26 tỷ USD.

Viện Nghiên cứu và Nuôi trồng Thủy sản II (RIA2) đã tiến hành chương trình chọn giống trên cá Tra nhằm nâng cao các tính trạng tăng trưởng năm 2001 và kháng bệnh năm 2012, góp phần phát triển bền vững nghề nuôi cá Tra [2]. Các quần thể cá Tra tự nhiên được thu thập tại nhiều địa điểm khác nhau trên lưu vực sông Mekong như Đồng bằng sông Cửu Long (Việt Nam); Biển Hồ (Tonle Sap, Campuchia); thác Kratie (Campuchia). Tuy nhiên, một trong những thách thức hiện nay của chương trình là xây dựng thông tin phả hệ nhằm ước tính chính xác các thông số di truyền và kiểm soát sự cận huyết nhằm nâng cao hiệu quả chọn giống [3].

Chỉ thị microsatellite (còn gọi là SSR hay STR) là một trong những chỉ thị phân tử được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu về định danh loài, di truyền học quần thể, bản đồ di truyền và truy xuất phả hệ [4]. Các microsatellite có tính đa hình cao, đồng trội và phân bố khắp hệ gen của hầu hết các loài sinh vật nhân thực [5] và có thể được khuếch đại dễ dàng từ DNA hệ gen bằng phương pháp PCR. Tuy nhiên, cho đến năm 2019, chỉ có 5 chỉ thị phát triển trên cá Tra được tối ưu thành hai bộ PCR đa môi [6]. Việc không phát triển thành các bộ PCR đa môi khiến công đoạn khuếch đại microsatellite mất nhiều thời gian, đặc biệt với số lượng chỉ thị và số lượng mẫu lớn, đồng thời gây bất lợi cho phân tích và quản lý dữ liệu kiểu gen cá thể [7]. Hơn nữa, các phương pháp xác định alen trong các nghiên cứu trước đây (trừ nghiên cứu của So và cs (2006) [8]) như điện di gel acrylamide [9] có độ phân giải thấp và khó có thể xác định chính xác sự chênh lệch 2 nucleotide giữa các alen [10]. Điều này có thể dẫn đến kết quả sai lệch khi đánh giá đa dạng di truyền trong các nghiên cứu trên.

Những năm gần đây, phương pháp phát triển chỉ thị

*Tác giả liên hệ: Email: lkhnguyen98@gmail.com

Assessment of genetic diversity among wild populations of the striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) by 20 novel microsatellite markers

Van Sang Nguyen¹, Minh Thanh Nguyen²,
Hoang Thong Nguyen¹, Hoang Gia Linh Tran²,
Hoang Khoi Nguyen Le^{2*}, Hong Loc Nguyen¹

¹Research Institute for Aquaculture No.2

²School of Biotechnology, International University,
Vietnam National University, Ho Chi Minh city

Received 3 May 2021; accepted 1 July 2021

Abstract:

The striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*, is one of the most economically important aquaculture species in Vietnam. This study developed 26 novel microsatellite markers from the draft genome of the striped catfish to assess the genetic diversity of three wild populations of the striped catfish (Bien Ho, Cuu Long, and Kratie) for establishing the breeding program. The study exhibited that 6 out of 26 loci had significantly high null allele frequency and deviated from Hardy - Weinberg equilibrium; thus, they were eliminated for further analysis. Across 20 loci without null alleles, a total of 255 different alleles was identified, ranging from 7 to 21 alleles per locus, with many unique alleles for each population. The results based on 20 loci revealed the mean polymorphic information content PIC=0.783; the mean observed heterozygosity $H_o=0.809$; the mean expected heterozygosity $H_e=0.812$; inbreeding coefficient $F_{is}=-0.0147$ ($F_{is}<0$). The results indicated that the striped catfish populations have high genetic diversity and are suitable for selective breeding. The Analysis of Molecular Variance (AMOVA) and comparison of genetic distances showed significant genetic differentiation among three populations while the Kratie population was distant from the others.

Keywords: genetic diversity, microsatellites, *Pangasianodon hypophthalmus*, striped catfish.

Classification number: 4.5

microsatellite với những loài đã biết trình tự hệ gen và xác định các alen của microsatellite bao gồm các bước: xác định nhanh chóng các chỉ thị bằng công cụ tin sinh học; thiết kế các cặp mồi khuếch đại vùng chứa chỉ thị hoạt động trong điều kiện PCR đồng nhất; sàng lọc và phát triển chúng thành các bộ multiplex PCR; sử dụng kỹ thuật điện di mao quản có đánh dấu huỳnh quang để phân tích đoạn DNA [7]. Chúng tôi đã áp dụng các phương pháp này và phát triển các microsatellite mới dựa vào trình tự hệ gen cá Tra đã được công bố [11]. Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá đa dạng di truyền các quần thể cá Tra tự nhiên thuộc Chương trình chọn giống cá Tra bằng các bộ chỉ thị microsatellite mới phát triển. Đồng thời, nghiên cứu cũng thảo luận về tiềm năng ứng dụng của các chỉ thị microsatellite phục vụ công tác chọn giống nhằm phát triển bền vững nghề nuôi cá Tra ở Việt Nam.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Tổng số 63 mẫu cá Tra từ tự nhiên theo 3 khu vực: quần thể Biển Hồ (20 mẫu) có nguồn gốc từ Biển Hồ, Campuchia; quần thể Cửu Long (22 mẫu) từ các trại giống ở Đồng bằng sông Cửu Long, thu thập từ cá bột hoặc cá trưởng thành ở tự nhiên; quần thể Kratie (21 mẫu) từ cá trưởng thành ở thác Kratie, Campuchia. Tất cả các mẫu cá này đều thuộc Chương trình chọn giống cá Tra thực hiện tại Trung tâm Quốc gia Giống thủy sản nước ngọt Nam Bộ. Các mẫu cá được bảo quản trong ethanol 80% và lưu trữ ở nhiệt độ -20°C.

Nghiên cứu sử dụng 26 chỉ thị microsatellite để phát triển thành 3 bộ PCR đa mồi bao gồm: M01 (10 chỉ thị) [12]; M02 (9 chỉ thị) và M03 (7 chỉ thị). Trình tự các mồi và thông tin cơ bản của các mồi không công bố ở đây do giới hạn độ dài của bài báo.

Phương pháp

Ly trích DNA tổng số: DNA tổng số được ly trích từ mẫu vây ngực bằng phương pháp kết tủa muối được điều chỉnh phù hợp với điều kiện tại RIA2 [12].

Khuếch đại đoạn chỉ thị bằng multiplex PCR và phân tích đoạn DNA: phản ứng multiplex PCR được thực hiện trên máy BIO-RAD S1000™ Thermal Cycler System với thể tích mỗi phản ứng 10 µl bao gồm 5 ng DNA tổng số, 5 µl Multiplex PCR Master Mix (QIAGEN Multiplex PCR Kit™), hỗn hợp các mồi theo từng bộ multiplex. Điều kiện của phản ứng PCR như sau: 95°C trong 15 phút, 30 chu kỳ bao gồm 95°C trong 30 giây, 55°C trong 90 giây, 72°C trong 60 giây, và giai đoạn kéo dài cuối cùng ở 60°C trong 30 phút. Sản phẩm PCR (1 µl) được pha với 11,8 µl Hi-Di™ formamide, 0,2 µl GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard và phân tích đoạn DNA trên hệ thống điện di mao quản 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) tại Công ty TNHH

dịch vụ và thương mại Nam Khoa.

Phân tích số liệu: từng microsatellite được tiến hành xác định alen bằng phần mềm GeneMapper 5 (Applied Biosystems). Các alen ảo (null allele) được tính toán theo tần số của Chakraborty và cs (1992) [13] và kiểm tra sai khác với cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) bằng phần mềm MICROCHECKER 2.2.3. Các tiêu chí đánh giá các locus microsatellite như hệ số đa hình (PIC), tỷ lệ dị hợp tử quan sát (H_o), tỷ lệ dị hợp tử mong đợi (H_e) được tính toán trên phần mềm Cervus 3.0.7. Các thông số đánh giá đa dạng di truyền ở mức độ quần thể như số alen thực tế (A), số alen hữu dụng (A_p), số alen hiệu quả (A_e), số alen đặc trưng (P_a), tỷ lệ dị hợp tử quan sát (H_o), tỷ lệ dị hợp tử mong đợi (H_e), hệ số cận huyết (F_{is}) được xác định trên Exel và FSTAT 2.9.4. So sánh tương quan di truyền trên cơ sở thay đổi mức độ phân tử (AMOVA) và kiểm định giá trị F_{ST} của Weir và Cockerham (1984) [14] để so sánh sự khác biệt di truyền theo phần mềm Arlequin 3.5. Biểu đồ cây di truyền theo phương pháp Neighbor-joining (NJ) được thiết lập theo khoảng cách di truyền D_{ST} của Nei (1972) [15] trên công cụ POPTREE2 với giá trị bootstrap là 1.000 lần lặp lại.

Kết quả và thảo luận

Đánh giá tính đa hình các microsatellite

Kết quả khuếch đại PCR đa mồi và phân tích đoạn: kết quả khuếch đại PCR đa mồi và phân tích đoạn với kích thước sản phẩm từ 101 đến 404 bp và tỷ lệ đọc kết quả khuếch đại thành công là 99,88%. Kiểm tra xác định các alen từ phần mềm MICROCHECKER 2.2.3 cho thấy, 6 locus (Pahy-02, Pahy-04, Pahy-08, Pahy-10, Pahy-20 và Pahy-27) có xuất hiện các alen ảo với tần số cao ($F_{null} > 0.06$) và sai khác đáng kể với HWE (giá trị $p < 0,05$). Do đó các microsatellite này không được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền và phân tích khác biệt di truyền giữa các quần thể. Nghiên cứu hiện tại chỉ sử dụng 20 microsatellite không có alen ảo và không sai khác với HWE cho các phân tích tiếp theo.

Kết quả đánh giá tính đa hình của 20 microsatellite: kết quả ước tính đa hình của 20 microsatellite cho các cá thể cá Tra được thể hiện ở bảng 1. Từ 63 mẫu cá Tra tự nhiên, nghiên cứu đã xác định được tổng cộng 255 alen trên 20 locus được khảo sát, dao động từ 7 alen (Pahy-01) đến 21 alen (Pahy-18), trung bình $12,75 \pm 3,97$ alen trên locus. Tất cả các locus đều có hệ số đa hình cao ($PIC > 0,5$), dao động từ 0,604 (Pahy-14) đến 0,883 (Pahy-07), tỷ lệ dị hợp tử mong đợi cao ($H_e > 0,6$), dao động từ 0,649 (Pahy-14) đến 0,899 (Pahy-07) [16]. Ngoài ra, tỷ lệ dị hợp tử trung bình H_o và H_e trên các locus không có sự sai khác đáng kể về mặt thống kê. Các kết quả này cho thấy, bộ PCR đa mồi đã xác định được các microsatellite có tính đa hình cao, phù hợp cho nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể và có tiềm năng ứng dụng vào xác định thông tin phả hệ trong các nghiên cứu sau này.

Bảng 1. Các thông số đa hình của 26 microsatellite phát triển trên cá Tra.

Locus	K	H_o	H_e	PIC	Tần số alen ảo
Pahy-02*	-	-	-	-	0,161
Pahy-04*	-	-	-	-	0,104
Pahy-10*	-	-	-	-	0,076
Pahy-08*	-	-	-	-	0,112
Pahy-20*	-	-	-	-	0,198
Pahy-27*	-	-	-	-	0,077
Pahy-01	7	0,762	0,785	0,747	0,011
Pahy-03	12	0,921	0,837	0,811	-0,052
Pahy-06	10	0,857	0,766	0,724	-0,060
Pahy-13	9	0,714	0,756	0,720	0,025
Pahy-15	14	0,746	0,765	0,728	0,009
Pahy-17	8	0,810	0,794	0,766	-0,014
Pahy-18	21	0,841	0,835	0,811	-0,008
Pahy-05	8	0,742	0,761	0,726	0,009
Pahy-07	20	0,873	0,899	0,883	0,010
Pahy-09	16	0,841	0,862	0,840	0,008
Pahy-11	15	0,921	0,871	0,851	-0,032
Pahy-14	8	0,683	0,649	0,604	-0,029
Pahy-16	11	0,794	0,794	0,761	-0,004
Pahy-19	15	0,778	0,834	0,806	0,031
Pahy-21	14	0,825	0,843	0,817	0,006
Pahy-22	15	0,825	0,858	0,836	0,015
Pahy-23	13	0,873	0,838	0,811	-0,024
Pahy-24	11	0,714	0,801	0,769	0,053
Pahy-26	11	0,810	0,818	0,787	0,001
Pahy-28	17	0,857	0,873	0,853	0,005
Trung bình	$12,75 \pm 3,97$	$0,809 \pm 0,067$	$0,812 \pm 0,057$	$0,783 \pm 0,064$	

Ghi chú: *: các locus có tần số alen ảo cao và sai khác với HWE; K: số alen trên mỗi locus; H_o : dị hợp tử quan sát; H_e : dị hợp tử mong đợi; PIC: mức độ đa hình.

Đánh giá đa dạng di truyền và so sánh cấu trúc di truyền giữa các quần thể

Đa dạng di truyền các quần thể: các thông số đánh giá đa dạng di truyền từng quần thể cá Tra trong nghiên cứu này bao gồm số alen thực tế (A), số alen hữu dụng (A_p), số alen hiệu quả (A_e), số alen đặc trưng (P_a), tỷ lệ dị hợp tử quan sát (H_o), tỷ lệ dị hợp tử mong đợi (H_e) được thể hiện trong bảng 2. Kết quả cho thấy, số alen hiệu quả (trung bình là $5,79 \pm 2,16$) thấp hơn so với số alen thực tế (trung bình là $8,62 \pm 2,84$) và số alen hữu dụng (trung bình là $8,42 \pm 2,70$) ở cả 3 quần thể cá Tra. Các quần thể đều có mức độ dị hợp tử thực tế rất cao ($H_o > 0,7$) cho thấy có nhiều biến dị di truyền xảy ra trong quần thể. Hệ số cận huyết F_{is} cho thấy quần thể Biển Hồ có hiện tượng cận huyết nhẹ ($0 < F_{is} = 0,0133 < 0,03$), trong khi hai quần thể còn lại có giá trị cận huyết âm (lần lượt là -0,0574 và -0,0001 với quần thể Cửu Long và Kratie). Điều này có thể giải thích vì sao quần thể Biển Hồ

có $H_0 < H_c$, mặc dù về mặt thống kê là không đáng kể (kiểm định student, t-test, trung bình 2 mẫu độc lập với giá trị $p=0,656>0,05$). Các thông số di truyền cũng cho thấy quần thể Cửu Long có mức độ đa dạng di truyền thấp nhất với chỉ 13 alen đặc trưng, trong khi đó quần thể Kratie có mức độ đa dạng di truyền cao nhất với 65 alen đặc trưng.

So với nghiên cứu của So và cs (2006) [8] bằng 7 chi thị microsatellite cũ trên 567 mẫu cá Tra thuộc 10 khu vực thu mẫu, các quần thể trong nghiên cứu này có số lượng alen hữu dụng trung bình (A_r) thấp hơn (8,42 so với 9,9); tuy nhiên lại có tỷ lệ dị hợp tử mong đợi trung bình (H_e) cao hơn (0,800 so với 0,773) và hệ số cận huyết F_{is} thấp hơn (-0,0147 so với 0,041). Nghiên cứu đã giải thích rằng, các chi thị cũ có tần số alen ảo cao (5 trên 7 chi thị), dẫn đến sự sai khác so với HWE và tỷ lệ đồng hợp tử ảo cao hoặc do bản thân các quần thể có xảy ra hiện tượng cận huyết hoặc do sự trộn lẫn các mẫu từ các quần thể khác nhau (hiệu ứng Wahlund). Do đó, chúng tôi nhận thấy các microsatellite có tần số alen ảo và tỷ lệ đồng hợp tử ảo cao, sai khác với HWE không nên sử dụng trong các nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền quần thể.

Bảng 2. Đặc điểm đa dạng di truyền của 3 quần thể cá Tra.

Quần thể	N	A	A_r	A_e	H_0	H_e	P_a	F_{is}
Biển Hồ	20	8,35±2,01	8,22±1,94	5,1±1,62	0,778±0,099	0,789±0,065	22	0,0133
Cửu Long	22	7,00±2,41	6,81±2,26	4,71±1,88	0,790±0,132	0,756±0,107	13	-0,0574
Kratie	21	10,50±2,95	10,23±2,76	7,43±1,96	0,855±0,070	0,85±0,042	65	-0,0001
Tất cả	63	8,62±2,84	8,42±2,70	5,79±2,16	0,808±0,106	0,800±0,086		-0,0147

Ghi chú: N: số mẫu nghiên cứu; A: số alen quan sát; A_r : số alen hữu dụng; A_e : số alen hiệu quả; H_0 : dị hợp tử quan sát; H_e : dị hợp tử mong đợi; P_a : số alen đặc trưng; F_{is} : hệ số cận huyết.

Phân tích AMOVA giữa các quần thể: phân tích mức độ thay đổi phân tử AMOVA (bảng 3) cho thấy mức độ thay đổi phân tử rất thấp giữa các quần thể (2,3%) và rất cao giữa tất cả các cá thể (99,0%). Điều này cho thấy mối quan hệ di truyền gần gũi giữa các cá thể cá Tra trên các lưu vực khác nhau của sông Mekong và có thể giải thích bởi tập tính di cư và vùng sinh sống rộng của cá Tra [17] với lượng cá thể rất lớn ($20-30 \times 10^6$) [18]. Tuy nhiên, giữa các quần thể cá Tra đã có sự thay đổi di truyền đáng kể (giá trị $p<0,05$). Kết quả này khác với nghiên cứu của So và cs (2006) [8] khi đánh giá các quần thể cá thể cá Tra trên cùng khu vực nghiên cứu không có sự khác biệt đáng kể về di truyền.

Bảng 3. Phân tích mức độ thay đổi phân tử AMOVA giữa 3 quần thể cá Tra.

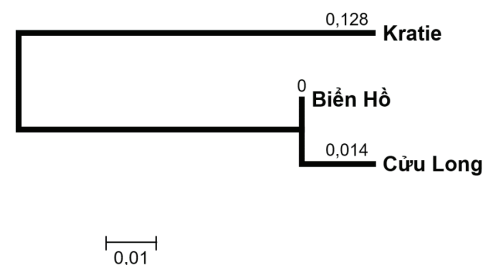
Nguồn biến động	Độ tự do	Tổng bình phương	Thành phần biến động	Phần trăm biến động	Chỉ số cố định	Giá trị p
Giữa các quần thể	2	31,6	0,189	2,3	0,023 (F_{ST})	<0,05
Giữa các cá thể trong quần thể	60	473,2	-0,101	-1,3	-0,013 (F_{IS})	0,387
Giữa các cá thể	63	509,5	8,093	99,0	0,01 (F_{IT})	0,806
Tổng	125	1014,3	8,181			

Khoảng cách di truyền và biểu đồ cây di truyền Neighbor-Joining: giá trị F_{ST} của Weir và Cockerham (1984) giữa các cặp quần thể (bảng 4) từ 0,002 (Biển Hồ - Cửu Long) đến 0,038 (Cửu Long - Kratie) và đều có giá trị $F_{ST}<0,05$, đồng nghĩa với việc các cặp quần thể đều có sai khác di truyền nhỏ. Tuy vậy, sự sai khác di truyền giữa cặp quần thể Biển Hồ - Kratie và Cửu Long - Kratie có ý nghĩa thống kê (giá trị $p<0,05$), trong khi cặp quần thể Biển Hồ - Cửu Long lại không có sai khác di truyền đáng kể. Biểu đồ NJ dựa trên khoảng cách di truyền D_{ST} của Nei (hình 1) thể hiện rõ mối quan hệ di truyền của 3 quần thể cá Tra được nghiên cứu. Trong đó quần thể Kratie có khoảng cách di truyền xa nhất, tách biệt so với mối quan hệ gần gũi giữa cặp quần thể Biển Hồ - Cửu Long, đồng thời có mối quan hệ gần hơn với quần thể Biển Hồ so với quần thể Cửu Long.

Bảng 4. Giá trị F_{ST} (góc dưới) và khoảng cách di truyền D_{ST} (góc trên) giữa các cặp quần thể cá Tra.

	Biển Hồ	Cửu Long	Kratie
Biển Hồ	-	0,002	0,116
Cửu Long	0,002	-	0,142
Kratie	0,026*	0,038*	-

*Khác biệt có ý nghĩa với giá trị $p<0,05$.



Hình 1. Biểu đồ cây di truyền NJ theo khoảng cách di truyền D_{ST} của Nei trên 3 quần thể cá Tra.

Dựa vào kết quả phân tích AMOVA, kiểm định giá trị F_{ST} và khoảng cách di truyền D_{ST} giữa các cặp quần thể có thể thấy đã có sự khác biệt di truyền giữa 3 quần thể. Quần thể Kratie có mức độ đa dạng di truyền cao và khác biệt so với quần thể Biển Hồ và Cửu Long. Kết quả này cho thấy, mặc dù quần thể Biển Hồ và Cửu Long có nguồn gốc từ tự nhiên nhưng đã được thu thập về các trại giống làm cá bố mẹ. Các trại giống có thể quản lý đàn cá bố mẹ không chặt chẽ khiến cho các quần thể này suy giảm mức độ đa dạng di truyền và dần có sự khác biệt di truyền so với quần thể Kratie còn hoang dã. Tuy vậy, quần thể Biển Hồ và Cửu Long vẫn còn an toàn vì vẫn duy trì mức độ đa dạng di truyền cao, chưa xảy ra hiện tượng cận huyết đáng kể và còn tồn tại các alen đặc thù. Do đó, Chương trình chọn giống cá Tra đang thực hiện tại Viện Nghiên cứu và Nuôi trồng Thủy sản II đã sử dụng nguồn vật liệu từ cả 3 quần thể này hình thành quần thể gốc cho chọn giống là hợp lý.

Kết luận

Nghiên cứu hiện tại đã xác định được 20 chỉ thị đa hình trong số 26 chỉ thị microsatellite mới được phát triển dựa vào hệ gen của cá Tra để đánh giá và so sánh đa dạng di truyền các quần thể cá Tra tự nhiên được sử dụng trong Chương trình chọn giống cá Tra. Kết quả phân tích các microsatellite cho thấy, các quần thể cá Tra có mức đa dạng di truyền cao, phù hợp để sử dụng cho Chương trình chọn giống. Ngoài ra, bộ chỉ thị mới cũng cho thấy nhiều ưu điểm so với các chỉ thị đã công bố trước đây và có tiềm năng ứng dụng trong các nghiên cứu về di truyền phân tử cá Tra trong tương lai.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Chương trình VLIR-UOS South Initiatives, mã số SI-2019-01-26. Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn đến GS. Filip Volckaert và ông Bart Hellemans - Laboratory of Biodiversity and Evolutionary Genomics (LBEG), Department of Biology, Faculty of Sciences, KU Leuven (Bỉ) với những hỗ trợ về công nghệ và kỹ thuật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] L.T. Phan, T.M. Bui, T.T.T. Nguyen, G.J. Gooley, B.A. Ingram, B.A. Nguyen, P.T. Nguyen, S.S. De Silva (2009), "Current status of farming practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta, Vietnam", *Aquaculture*, **296**(3-4), pp.227-236.

[2] V.S. Nguyen, G. Klemetsdal, J. Ødegård, H. Gjøen (2012), "Genetic parameters of economically important traits recorded at a given age in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)", *Aquaculture*, **344-349**(12), pp.82-89.

[3] Q. Liu, F. Cui, P. Hu, G. Yi, Y. Ge, W. Liu, H. Yan, L. Wang, H. Liu, J. Song, Y. Jiang, L. Zhang, X. Tu (2018), "Using of microsatellite DNA profiling to identify hatchery-reared seed and assess potential genetic risks associated with large-scale release of swimming crab *Portunus trituberculatus* in Panjin, China", *Fisheries Research*, **207**, pp.187-196.

[4] N. Mittal, A. Dubey (2009), "Microsatellite markers - A new practice of DNA based markers in molecular genetics", *Pharmacogenosy Reviews*, **3**, pp.235-246.

[5] Y. Kelkar, N. Strubczewski, S. Hile, F. Chiaromonte, K. Eckert, K. Makova (2010), "What is a microsatellite: A computational and experimental definition based upon repeat mutational behavior at A/T and GT/AC repeats", *Genome Biology and Evolution*, **2**, pp.620-635.

[6] M.T. Nguyen, N.T.P. Le, T.L. Nguyen, A.L. Duong (2019), "Parentage assignment in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) based on microsatellite markers", *The Israel Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, **IJA_71.2019.1605**, p.9.

[7] E. Guichoux, L. Lagache, S. Wagner, P. Chaumeil, P. Leger, O. Lepais, C. Lepoittevin, T. Malausa, E. Revardel, F. Salin, R.J. Petit (2011), "Current trends in microsatellite genotyping", *Mol. Ecol. Resour.*, **11**(4), pp.591-611.

[8] N. So, G.E. Maes, F.A.M. Volckaert (2006), "High genetic diversity in cryptic populations of the migratory sutchi catfish *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong River", *Heredity*, **96**(2), pp.166-174.

[9] Bùi Thị Liên Hà, Nguyễn Văn Sáng, Nguyễn Văn Hào, David Hurwood, Peter Mather (2011), "Bước đầu đánh giá đa dạng di truyền quần đàn cá Tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) có nguồn gốc tự nhiên từ các trại giống và chương trình chọn giống ở Việt Nam", *Tuyển tập Nghề cá sông Cửu Long*, tr.13-23.

[10] X. Wang, T.A. Rinchart, P.A. Wadl, J.M. Spiers, D. Hadziabdic, M.T. Windham, R.N. Trigiano (2009), "A new electrophoresis technique to separate microsatellite alleles", *African Journal of Biotechnology*, **8**(11), pp.2432-2436.

[11] O.T.P. Kim, P.T. Nguyen, E. Shoguchi, K. Hisata, T.T.B. Vo, J. Inoue, C. Shinzato, B.T.N. Le, K. Nishitsuji, M. Kanda, V.H. Nguyen, H.V. Nong, N. Satoh (2018), "A draft genome of the striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*, for comparative analysis of genes relevant to development and a resource for aquaculture improvement", *BMC Genomics*, **19**(1), p.733.

[12] Nguyễn Văn Sáng, Nguyễn Minh Thành, Nguyễn Hồng Lộc, Nguyễn Hoàng Thông, Lê Hoàng Khôi Nguyên (2013), "Kết quả bước đầu phát triển bộ chỉ thị microsatellite mới từ hệ gen cá Tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bằng công cụ tin sinh học", *Tạp chí Nghề cá sông Cửu Long*, **18**, tr.14-22.

[13] R. Chakraborty, M. De Andrade, S.P. Daiger, B. Budowle (1992), "Apparent heterozygote deficiencies observed in DNA typing data and their implications in forensic applications", *Annals of Human Genetics*, **56**, pp.45-47.

[14] B.S. Weir, C.C. Cockerham (1984), "Estimating F-statistics for the analysis of population structure", *Evolution*, **38**, pp.1358-1370.

[15] M. Nei (1972), "Genetic distance between populations", *The American Naturalist*, **106**(949), pp.283-292.

[16] D. Botstein, R.L. White, M. Skolnick, R.W. Davis (1980), "Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms", *American Journal of Human Genetics*, **32**(3), pp.314-331.

[17] S.T. Touch (2000), *Life cycle of Pangasianodon hypophthalmus and the impact of catch and culture*, Paper presented at the Catfish Asia Conference, Bogor, Indonesia.

[18] N. So, T. Nao. (1999), *National aquaculture development review (1984-1999) and aquaculture development plan (2000-2020)*, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Phnom Penh, Cambodia.